

(19) Japan Patent Office (JP)

(11) Patent Application Release

(12) Open Patent Report (A)

S59-33214 ✓

(51) Int. Cl³ Identification Code
A 61 K 9/58 ADU
//A 61 K 31/505

Office Reference Number
7057-4C
7169-4C

(43) Disclosed: February 23, 1984

Number of Inventions: 2

Examination Requested: No
(4 pages total)

(54) A Carcinostatic Agent Prepared From Microspheres, and the Manufacturing Method Thereof.

(21) Patent Application S57-142664

(22) Application Date August 19, 1982

(72) Inventor Hiro Takayanagi
300 Hirahara-cho, Oomuta-shi

(72) Inventor Makoto Asano
2882 Iijima, Totsuka-ku, Yokohama

(72) Inventor Kiyoharu Hasegawa
4-5-45 Dai, Kamahara-shi

(72) Inventor Kazushige Arata
213 Enmeiji-cho, Oomuta-shi

(71) Applicant Mitsui East Pressure Chemistry, Inc.
3-2-5 Kasumigahara, Chiyoda-ku, Tokyo

Specifications

1. Name of the Invention

A Carcinostatic Agent Prepared From Microspheres, and the Manufacturing Method Thereof.

2. Scope of the Patent Claim

1. A carcinostatic agent prepared from microspheres formed from 1-n-hexylcarbamoyl-5-fluorouracil and polylactic acid, or from the uniform compound with its copolymer.

2. A method of manufacturing a carcinostatic agent prepared from microspheres formed from 1-n-hexylcarbamoyl-5-fluorouracil and polylactic acid or from the uniform compound with its copolymer, attained by stirring 1-n-hexylcarbamoyl-5-fluorouracil, dissolved in methylene chloride, and polylactic acid or its copolymer solution into an aqueous gelatin solution preserved at pH values between 3 ~ 6.

3. Detailed Description of the Invention

This invention is concerned with a controlled-release carcinostatic agent prepared by formulating 1-n-hexylcarbamoyl-5-fluorouracil into microspheres, and the manufacturing method thereof.

The "carcinostatic agent prepared from microspheres" of this invention is a carcinostatic agent structured from microspheres possessing granular particles with grain diameter 10~300 μ , which are formed by uniformly solidifying a solution of polylactic acid (or its polymer) and 1-n-hexylcarbamoyl-5-fluorouracil.

1-n-hexylcarbamoyl-5-fluorouracil (abbreviated HCFU hereafter) is a masking compound of the carcinostatic agent 5-fluorouracil (abbreviated 5-FU hereafter). 5-FU is known among antimetabolite carcinostatic agents as an agent with excellent medicinal efficacy, but it has the following shortcomings: it has a short metabolic half-life, it is highly toxic, and induces impediment of the digestive organs, in particular.

In order to improve on these shortcomings, HCFU was recently developed as one element for use in an oral carcinostatic agent. HCFU is already considered an exceptional carcinostatic agent with regard to carcinostatic activity, blood concentration duration, and hypotoxicity, but if it is administered continually over a long period of time, the complete suppression of side effects cannot be guaranteed.

Active research is performed with regard to dosage methods and medicine shape, in which a carcinostatic agent, which can be administered locally, is administered as a carcinostatic treatment to the cancer-affected region alone and prevents side effects to the regions of normal cells, while simultaneously using an excipient such as resin and considering the durability of the medicine.

As a known method of so-called "controlled-release local dosage," which supplies the effective ingredient quantity of carcinostatic agents continually over an extended period of time to the cancer-affected region alone, there is, for example, a method in which a carcinostatic agent is inserted into a capsule or formed into a pill-shaped material and buried within the cancer-affected region. There is also a method in which agents are formed into microcapsules with a polymerized film through a coacervation of carcinostatic agents, or the polymer and the agent are dissolved together using the same solvent and uniformly solidified at the molecular level, then separated and cast into a microsphere agent. This agent is then injected into a muscle or blood vessel of the affected region, creates an embolus in the capillary vessels of the affected region with these capsules or spheres, and infiltrates only the blood vessel obstructed by the embolus.

In cases in which carcinostatic agents that are prepared with microcapsules or microspheres are used as the embolus for the blood vessel of the affected region, materials with a uniform grain diameter under the vicinity of 200 μ are normally required. Furthermore, the microspheres must have a prescribed controlled-release effect; therefore, microcapsules that have been capsulized outside a prescribed grain diameter have a uniform film, and it is necessary that materials that have been formed into microspheres be prepared such that they have a homogeneous mixture. An organism-resorptive macromolecular material is ideal for the polymer that forms the base for the film or mixture used as the excipient for the microspheres, but ethyl cellulose or polyvinyl alcohol are normally used in the preparation of microspheres. Polyglycolic acid and polylactic acid are organism-resorptive macromolecular materials, but they have such physical limitations as: the melting temperature and viscosity of polyglycolic acid are high, and the glass transition temperature of polylactic acid is low, while its viscosity is high. Therefore, it is considered difficult to obtain uniform microspheres with these organism-resorptive macromolecular materials.

Therefore, there have been very few cases in which polyglycolic acid (or its copolymer) or polylactic acid (or its copolymer) were actually used to create microcapsules and microspheres (microspheres are usually called micropills), but it is documented in the patent release report S54-55717 that polylactic acid was applied under extremely low temperature conditions (-40 ~ -100°C).

In the public report mentioned above, when microcapsules are manufactured at such low temperatures as -40 ~ -100°C, the capsulized core materials are insoluble like toluene. In the case in which polylactic acid uses a solvent with a low freezing point and isolates the microscopic grains of the core material to manufacture microspheres, both the polymer and the micro-granulated agent core are dissolved using a solvent mixture of toluene and chloroform. Microspheres are manufactured by adding a phase separating agent such as polyvalent alcohol, which is a non-solvent to counterbalance the solvent, to these low-temperature solutions, and then separating capsule grains or sediment grains.

In the case of carcinostatic agents formulated from microspheres, the shape of the finely ground agent grains is not normally uniform, so it is difficult to obtain a uniform film in microcapsulation. Therefore, although it is said that microspheres are suitable with regard to their prescribed controlled-release effect, in order to formulate these grains into microspheres, it is necessary to completely dissolve the medicine. However, as in the report described above, there are very few solvents that will dissolve both polylactic acid (or its copolymer) and a known carcinostatic agent, and it can therefore be concluded that, in this report, the core grains of the agent needed to be micro-granulated.

In the midst of earnestly investigating microspheres within an HCFU microsphere agent, the authors of this invention discovered the unexpected result that HCFU and polylactic acid (or its copolymer) are highly mutually soluble. The inventors discovered that an agent that is prepared from pellet-shaped microspheres, which are created by uniformly combining these materials through solidification, has powerful controlled-release efficacy as a carcinostatic agent.

Furthermore, the inventors learned that very-low temperature implementation and preprocessing for micro-granulation are unnecessary, and that by combining a particular solvent with a particular phase-separating agent, there is absolutely no cohesion among like microspheres. Finally, the inventors discovered that uniform HCFU microspheres with an average grain diameter of less than 200 μ could be obtained, which are ideal for cases in which the above materials are used with an embolus present in the blood vessels of a cancer-affected region.

This invention provides an HCFU carcinostatic agent prepared from microspheres formed from 1-n-hexylcarbamoyl-5-fluorouracil and polylactic acid, or from the uniform compound with its copolymer, and a manufacturing method thereof.

The polylactic acid (or its copolymer) used in this invention is a copolymer of poly-D, L-lactic acid, and glycolic acid with over 50% lactic acid content, and a macromolecule that has a polylactic acid with a characteristic viscosity between 0.5 ~ 1.5 (measured at 0.5% density within a mixed solution of 10-weight phenol and 7-weight trichloric phenol at 30 ± 0.1 °C) would be ideal.

The microspheres of this invention, which are formulated from polylactic acid and HCFU, can be manufactured in the manner described below.

At room temperature, add a type of polylactic acid and an amount of granulated HCFU totaling less than 40% of the weight of the polylactic acid (ideally around 1 ~ 10%) to a solution of methylene chloride. It is best to use polylactic acid with a diluted concentration between 1 ~ 10% of that of the methylene chloride. Prepare separately an aqueous gelatin solution with a pH value regulated between 3.0 ~ 6.0 (ideally between 4.0 ~ 5.0) by diluting 0.3 ~ 0.5% of the aqueous gelatin solution with dilute hydrochloric acid. With an aqueous gelatin solution with a pH value greater than 6.0, the HCFU will undergo hydrolysis when the methylene chloride solution is added, so this is not desirable. Also, uniform microspheres cannot be obtained with a pH value less than 3.0. Stir methylene chloride, in which the HCFU and a type of polylactic acid are dissolved, into this acidic aqueous gelatin solution, and by slowly increasing the temperature from 30 ~ 60°C, methylene chloride from within the emulsified solution will foam in a micelle shape and evaporate. By increasing the temperature over several hours the methylene chloride will completely evaporate, so then remove and isolate the upper stratum of condensation, and wash away the gelatin residue with warm water with a pH value between 4 ~ 5. By then performing vacuum dehydration, white microspheres with grain diameter between 10 ~ 300 μ can be obtained, and there will never be any methylene chloride residue on the spheres.

Microsphere carcinostatic agents containing HCFU that are obtained in this way are a grain-shaped uniform mixture of a biopolymer-based agent of a type of polylactic acid and HCFU, and these carcinostatic agents possess prescribed controlled-release properties.

Below we demonstrate an example of execution.

Examples of Embodiment

After stirring and dissolving 1.8 g of poly-DL lactic acid (measured at 30 ± 0.1 °C with 0.5% density within a mixed solution of phenol and trichloric phenol with a 10 / 7 weight ratio) with a characteristic viscosity value $\eta = 0.63$ into 40 g of methylene chloride, we added 0.2 g of 1-n-hexylcarbamoyl-5-fluorouracil (HCFU) [made by Mitsui East Pressure Chemistry, Inc.; product name: Miflor], completely solubilized the solution, and obtained a uniform, transparent solution.

Separately, we then added 2 g of acid treatment gelatin [made by Kyujo Chemistry, Inc., jelly strength: 250] to 198 g of water, dissolved the solution by increasing the temperature to 50°C, and produced 1% aqueous solution. After cooling the solution to air temperature, we adjusted the pH level to 4.5 with dilute hydrochloric acid.

We moved this aqueous gelatin solution into a 500 ml beaker, added the above-mentioned methylene chloride solution, and after stirring and emulsifying the solution for 5 minutes using a 5 cm churning shuttlecock at 300 rpm, we evaporated the methylene chloride while gradually heating from the outside. The interior temperature reached 50°C after approximately 30 minutes, and we then confirmed that the odor of methylene chloride had completely disappeared, and ended the microsphere-creating process. We removed the faint condensation on the upper stratum, and after wiping and flushing the system with warm water with a pH value of 4.5, we air-dried the solution at 50°C and obtained a 1.6 g spherical, white microsphere with grain diameter between 30 ~ 200 μ .

The chemical element analysis values of this microsphere were as expressed in the chart below, and it uniformly contained 9.3% HCFU. Also, the results of chlorine analysis showed absolutely no signs of methylene chloride content.

	C (%)	H (%)	N (%)	F (%)
Chemical Element Analysis Value	49.94	5.84	1.53	0.69

Test Example

After dissolving a fine powder of HCFU in physiological saline with a pH value of 6 and leaving it for one day and night, we measured the ultraviolet spectrum of this saline broken down by the eluted HCFU. We confirmed that the absorbance and density were directly proportional, and created the following calibrating curve.

5-FU Density (mg/l) I: Abs (λ max: 270 nm)

1.	7	0.135
2.	14	0.28
3.	21	0.426
4.	28	0.551
5.	35	0.686

Using this, we inserted 100 mg of the microsphere, which was obtained in the example of execution and contained 9.3% HCFU, into 50 ml of physiological saline. Immediately after directly sampling 1 ~ 3 ml each day of measurement, we measured the UV spectrum and obtained the results of the following chart.

# Days	1	4	6	7	8	11	15	20
Eluted 5-FU (ppm)	7.5	19	22	24	26	31	36	38
Elution Ratio (%)	4	10	12	13	14	17	19	20

From this chart, it was confirmed that the HCFU carcinostatic agent, which was formulated from microspheres obtained from the example of execution, had a long-term controlled-release effect.

Patent applicant:
Mitsui East Pressure Chemistry, Inc.

① 日本国特許庁 (JP)

① 特許出願公開

② 公開特許公報 (A)

昭59-33214

SpInt. Cl.³
A 61 K 9/58
// A 61 K 31/505

識別記号
A D U

庁内整理番号
7057-4 C
7169-4 C

④ 公開 昭和59年(1984)2月23日

発明の数 2
審査請求 未請求

(全 4 頁)

⑤ 微小球に製剤された制ガン剤及びその製造方法

横浜市戸塚区飯島町2882番地

⑦ 発明者 長谷川清春

鎌原市台4-5-45

⑥ 特 願 昭57-142664

⑦ 発明者 新田一成

⑥ 出 願 昭57(1982)8月19日

大牟田市延命寺町213番地

⑦ 発明者 高柳弘

⑧ 出 願 人 三井東圧化学株式会社

大牟田市平原町300番地

東京都千代田区霞が関3丁目2番5号

⑦ 発明者 浅野真

明 細 書

1. 発明の名称

微小球に製剤された制ガン剤及びその製造方法。

2. 特許請求の範囲

(1) 1-n-ヘキシルカルバモイル-5-フルオロウラシルとポリ乳酸またはその共重合体の均質混合物よりなる微小球に製剤された制ガン剤。

(2) 塩化メチレンに溶解された1-n-ヘキシルカルバモイル-5-フルオロウラシルとポリ乳酸またはその共重合体溶液をPH3~6に維持されたゼラチン水溶液中に攪拌下添加で得られる、1-n-ヘキシルカルバモイル-5-フルオロウラシルとポリ乳酸またはその共重合体よりなる微小球に製剤された制ガン剤の製造方法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、1-n-ヘキシルカルバモイル-

5-フルオロウラシルを微小球に製剤した徐放性制ガン剤及びその製造方法に関する。

本発明で「微小球に製剤された制ガン剤」とは、ポリ乳酸またはその共重合体と1-n-ヘキシルカルバモイル-5-フルオロウラシルが均質に固溶化されていて顆粒状となつた粒径10~300μを有するマイクロスフェア(micro sphere)構造の微小球制ガン剤である。

1-n-ヘキシルカルバモイル-5-フルオロウラシル(以下、HCFUと略する。)は、制ガン剤5-フルオロウラシル(以下、5-FUと略する。)のマスク化合物である。5-FUは代謝拮抗剤系の制ガン剤の中でも薬理効果の優れた薬剤として知られているが、代謝半減期が短く、毒性が強く、特に生体内で消化器管障害をおこす欠点がある。

このような欠点を改善するため、経口制ガン剤用の一つとして最近HCFUが開発された。HCFUは制ガン活性、血中濃度持続時間、低毒性などの点ですぐれた制ガン剤としてすでに

定評があるが、やはり、経口制ガン剤として大量投与、長期連続投与すれば消化器系の副作用の抑制は必ずしもゼロとは云えない。

一方、最近の制ガン療法として局部投与可能な制ガン剤をガン患部周辺のみ投与して正常細胞個所への副作用を防止し、同時に樹脂などの賦形剤を用いて薬効の持続性を考慮した投与方法や、薬剤形態の研究も盛んにおこなわれている。

このようなガン患部周辺のみ長期的にわたって継続的に有効成分量の制ガン剤を供給するいわゆる徐放性局部投与方法として公知なものとしては、例えば制ガン薬剤をカプセル中に入れ、または錠剤ないしベレット状などに成形したものをガン患部の局部周辺に埋め込む方法や、制ガン薬剤をコアセルベーションにより重合物被膜で薬剤をマイクロカプセル化、または重合物と薬剤とを同じ溶媒を用いて溶解して分子レベルで均質に固溶化、析出させて、マイクロスフェアにした微小球成形薬剤を、局部周辺の筋

肉内ないしは血管内に注入し、局部周辺の毛細血管内に核カプセルまたはスフェアで塞栓して閉栓された局部血管のみに薬剤の投出を利用する方法などが挙げられる。

マイクロカプセルまたはマイクロスフェアなどの微小球に製剤された制ガン剤を局部周辺血管の塞栓として用いる場合は、通常粒径200 μ 程度以下の均一な粒径を有するものが要求される。また、これらの微小球は一定の徐放効果のあるものが必要であり、そのためには一定粒径の外にマイクロカプセルされたものは均一な被膜を有しており、マイクロスフェアされたものは均質な混合を有するよう製剤する必要がある。

また微小球に賦形するための被膜や混合剤となる重合物は、生体吸収性の高分子材料が好ましいが、微小球の製剤には通常、エチルセルローズ、ポリビニールアルコールなどが使用されている。ポリグリコール酸、ポリ乳酸類は生体吸収性高分子であるが、ポリグリコール酸は溶融温度及び溶融粘度が高く、ポリ乳酸はガ

ラス転位温度が低く、溶融粘度が高いなどの物性上の制約があり、これらの生体吸収性高分子材料では均一な微小球は得られがたいとされている。

このためマイクロカプセルまたはマイクロスフェア（通常マイクロスフェアをマイクロブリルとも云う。）にポリグリコール酸またはその共重合物及びポリ乳酸またはその共重合物を用いた例は極めて少ないが、特開昭54-

55717公報には、ポリ乳酸を用いて-40~-100℃の超低温条件下で実施されている記載がある。

前記公報では、-40~-100℃の低温で、マイクロカプセルを製造する場合はトルエンなどのようにカプセル化されるコア材料は不溶性であり、ポリ乳酸は溶解する凍結点の低い溶媒を用いてコア材料微粒子を分散させ、またマイクロスフェアを製造する場合は、トルエンにクロロホルムなどを混合した溶媒を用いて重合物及び微粒化した薬剤コアの両者を溶かし、こ

れらの低温溶液中に溶媒に対して非溶媒である多価アルコールなどの相分離剤を添加してカプセル粒子または沈降物粒子を析出させて製造されている。

通常、微小球に製剤された制ガン剤の場合、微粉末化された薬剤粒子の形状が均一ではないので、マイクロカプセル化では均一な被膜が得難いので、薬剤の一定徐放効果の点ではマイクロスフェアがよいと云われているが、マイクロスフェアにするためには薬剤を完溶させる必要がある。しかしながら、前記公報のように超低温では、ポリ乳酸またはその共重合体及び公知の制ガン剤を共通に溶解させる溶媒は非常に少なく、前記公報はそのため、薬剤などのコア粒子を超微粒化して用いる必要があつたものと思われる。

本発明者らは、HCFU微小球製剤の中でマイクロスフェアを鋭意検討している中に、驚くべきことにHCFUはポリ乳酸またはその共重合体とは相溶性がよく、両者は固溶化により均

質に混合され、微小球顆粒状のマイクロスフェアに製剤されたものは制ガン剤として徐放効果の大きいことがわかった。しかも、超低温での実施やHCFUの超微粒化の前処理の必要もなく、特定溶媒と特定の相分離剤を組み台せることにより、マイクロスフェア同志の凝集も全くなく、特にガン発生局周囲血管内に塞栓状態で用いる場合最適な平均粒径200 μ 程度以下の均一なHCFUのマイクロスフェアが得られることもわかった。

本発明は、1-n-ヘキシルカルバモイル-5-フルオロウラシルとポリ乳酸またはその共重合体の均質混合物よりなるマイクロスフェア微小球に製剤されたHCFU制ガン剤及びその製造方法を提供するものである。

本発明に用いるポリ乳酸またはその共重合体は、ポリ-D、L-乳酸、乳酸50%以上のグリコール酸との共重合体であり、固有粘度0.5~1.5を(フェノール10重量部とトリクロロフェノール7重量部の混合溶媒中30 \pm 0.1 $^{\circ}$ C

の塩化メチレンは起泡しながら蒸発する。数時間加熱すれば、塩化メチレンは完全に蒸発除去されるので、上層の凝集物を除き、逕過分離し、PH4~5の温水で残留するゼラチンを洗浄除去して、真空乾燥すると、10~300 μ の粒径の白色のマイクロスフェアが得られ、マイクロスフェア中には塩化メチレンは全く残留することはない。

このようにして得られたHCFU含有の微小球制ガン剤は、ポリ乳酸類の生体高分子基剤とHCFUが均質に混合された顆粒状になつており、一定の徐放性を有する。

以下、実施例を示す。

実施例

固有粘度値 $[\eta]=0.63$ を有するポリDL乳酸(フェノール/トリクロロフェノール=10/7(重量比)の混合溶剤中30 $^{\circ}$ Cに於ける濃度0.5%で測定)1.8gを塩化メチレン40gに攪拌しながら溶解したのち、1-

の濃度0.5%で測定)有する高分子のものが好ましい。

本発明のポリ乳酸類とHCFUよりなるマイクロスフェアは以下のようにして製造することができる。

室温でポリ乳酸類とこれに対し粉末状HCFU40重量%以下、好ましくは10重量%程度を塩化メチレンに添加して完全に溶解する。ポリ乳酸類は塩化メチレンに対し1~10%程度の希薄濃度で用いるのがよい。これとは別にゼラチンの0.3~5%水溶液を希塩酸でPH3.0~6.0、好ましくは4.0~5.0に調整したゼラチン水溶液を用意する。PH6.0以上のゼラチン水溶液では塩化メチレン溶液を添加した場合HCFUが加水分解するので好ましくない。またPH3以下では均一のマイクロスフェアは得られない。このゼラチン酸性水溶液中に、HCFU及びポリ乳酸類の溶解された塩化メチレン溶液を攪拌下に添加し、ゆつくり30~60 $^{\circ}$ Cまで昇温するとミセル状で乳化している溶液中

n-ヘキシルカルバモイル-5-フルオロウラシル(HCFU)(三井東圧化学(株)製、商品名ミフロール)0.2gを加えて、完全に可溶化して透明な均一溶液を得た。

別に、酸処理のゼラチン〔宮城化学(株)製、ゼリー強度250ブルーム〕2gを、19.8gの水に加え50 $^{\circ}$ Cで加熱溶解して1%水溶液を作成し、室温迄冷却したのち、希塩酸によりPHを4.5に調整した。

500mlビーカー中に該ゼラチン水溶液を移しこれに該塩化メチレン溶液を加え5cmの楕型攪拌羽根を用いて300rpmで5分間攪拌乳化したのち、外部より徐々に加熱しながら塩化メチレンを蒸発させ、約30分を要して内温が50 $^{\circ}$ Cになり、塩化メチレン臭が完全に消失したことを確認してマイクロスフェア化を終えた。上層の若干の凝集物を除去したのち逕過およびPH4.5の温水で水洗したのち、50 $^{\circ}$ Cで風乾して粒子径30~200 μ の白色球状のマイクロスフェア1.6gを得

た。

該マイクロスフェアの元素分析値は下表の通りであり、9.3%のHCFUを均一に含有するものであつた。また、塩素分析の結果、塩化メチレンの含有は全く認められなかつた。

	C(%)	H(%)	N(%)	F(%)
元素分析値	49.94	5.84	1.53	0.69

	5-FU濃度 (mg/l)	I : Abs (λmax : 270 nm)
①	7	0.135
②	14	0.28
③	21	0.426
④	28	0.551
⑤	35	0.686

試験例

HCFU粉末をPH6の生理食塩水(NaCl0.9%)に溶かして1昼夜放置後、溶出HCFUが5-FUに分解したこの生理食塩水のUVスペクトルを測定し、吸光度と濃度が比例することを確認して下記の検量線を作成した。

これを用いて、実施例で得られたHCFU 9.3%含有のマイクロスフェア100mgを50mlの生理食塩水に入れ、各測定日に直接1ml~3mlサンプリングして直ちにUVスペクトルを測定して下表の結果を得た。

日数 (Day)	1	4	6	7	8	11	15	20
溶出5-FU(ppm)	7.5	19	22	24	26	31	36	38
溶出率 (%)	4	10	12	13	14	17	19	20

表より、実施例で得られたマイクロスフェア

を微小球に製剤されたHCFU制ガン剤は、長期間徐放効果があることが確認された。

特許出願人

三井東圧化学株式会社